

グリホサート分析法（大豆）

1. 分析対象化合物

- ・グリホサート及び*N*-アセチルグリホサート（NAG）

2. 装置

高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

3. 試薬、試液

- | | |
|------------------------------------|--|
| メタノール、ジクロロメタン、水 | : LC/MS 用 |
| グリホサート、 <i>N</i> -アセチルグリホサートナトリウム塩 | : 分析用標準品 |
| その他の試薬 | : 特級 |
| C ₁₈ ミニカラム | : Bond Elut SPE Cartridge: C ₁₈ , 500 mg/6mL (Varian 製) |
| MAX ミニカラム | : Oasis MAX SPE Cartridge, 500 mg/6mL (Waters 製) |

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 5g を 0.1%ギ酸／4%メタノール水溶液 50ml に 15 分浸漬した後、2 分間ホモジナイズする。毎分 13,000 回転で 15 分間遠心分離した後、上清を採る。沈渣に 0.1%ギ酸／4%メタノール水溶液 25ml を加え、同じ操作を 2 回繰り返す。上清を合わせて水で 100 mL とする。そこから 30 mL を分取し、ジクロロメタン 20 mL で分配した後、水性画分を回収する。回収した水性画分をスチームバスで 15 分間処置し、1.0 μm 以下の親水性フィルターを通して抽出液とする。

2) 精製

①C₁₈ ミニカラムにメタノール 1 mL、0.1%ギ酸／4%メタノール水溶液 12ml を順に注入したあと、1) で得られた抽出液 4 mL を注入し、流出液を捨てる。このカラムに 1) で得られた抽出液 10 mL を注入し、流出液を回収する。得られた流出液 2 mL を分取し、25%水酸化アンモニウム 80 μL、100 ng/mL の内部標準液 0.25 mL を添加し、メタノールで 20 mL とする。

②MAX ミニカラムにメタノール 6 mL、0.25%水酸化アンモニウム／95%メタノール水溶液 12ml を順に注入し、流速 2-5 mL/分となるよう吸引力を調整する。このカラムに①で得られた溶液を MAX ミニカラムに注入した後、80%メタノール水溶液 15 mL、0.1 mol/L 酢酸／80%メタノール水溶液 10 mL、95%メタノール水溶液 10 mL の順でカラムを洗浄する。過剰な残液を吸引したあと、1% TFA 90%メタノール水溶液 4 mL で 5 分かけて溶出する。同様の溶出作業をもう一度繰り返した後、吸引して残液を回収する。得られた溶出

液を乾燥させ、0.02 mol/L リン酸 5 mL に溶解する。

5. 検量線の作成

グリホサート、*N*-アセチルグリホサートナトリウム塩の標準品を水に溶解し、100 µg/mL の標準溶液を調製する。調製した標準溶液を水で希釈して検量線の標準液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5 の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

カラム : Luna[®] Phenyl-Hexyl, 3 µm
(4.6 mm i.d.× 150 mm, Phenomenex 製)
カラム温度 : 40 °C
移動相 : 移動相 A 0.2 mol/L ギ酸溶液
移動相 B メタノール

	流速 (mL/min)	%A	%B
0-10 分	0.35	95	5
10-10.1 分	0.35	40	60
10.1-13 分	0.5	1	99
13.1-18 分	0.5	95	5

流量 : 0.5 mL/min
注入量 : 25 µL
保持時間の目安 : グリホサート ; 5.3 分
N-アセチルグリホサート ; 7.4 分

イオン化モード : ESI (+)

モニタリング
イオン :

	プレカーサー イオン (<i>m/z</i>)	プロダクト イオン (<i>m/z</i>)
グリホサート	170.00	59.80, 87.80
<i>N</i> -アセチルグ リホサート	212.00	88.00, 170.00

8. 定量限界

0.05 mg/kg

9. 留意事項

なし

※ 本分析法は、農作物及び畜産物における残留試験等において用いられた残留農薬等分析法であり、新たな試験法の開発等に際して参考として下さい。なお、当該分析法をもとに開発した試験法を食品規格への適合判定のために使用する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について（平成 22 年 12 月 24 日薬食発 1224 第 1 号）」に従って使用する試験法の妥当性を評価する必要があります。